

ラット子宮筋腫細胞に対する抗糖尿病薬メトホルミンの血管新生抑制効果について

著者	只川 真理
号	84
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3372号
URL	http://hdl.handle.net/10097/61239

氏名	ただかわ まり 只川 真理
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成27年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	ラット子宮筋腫細胞に対する抗糖尿病薬メトホルミンの血管新生抑制効果について
論文審査委員	主査 教授 八重樫 伸生 教授 有馬 隆博 教授 佐藤 靖史

論文内容要旨

1 研究目的

子宮筋腫は過多月経や不妊など種々の健康障害を引き起こし、閉経前女性の子宮摘出術の主たる原因となる。子宮温存を希望する患者には薬物治療として GnRH(gonadotropin releasing hormone; 性腺刺激ホルモン放出ホルモン)アゴニストが用いられてきたが、骨粗鬆症などの副作用により長期投与不可能であるといった問題点がある。一方、糖尿病治療薬であるメトホルミンは多嚢胞性卵巣症候群の排卵障害改善に用いられてきた歴史があり、生殖年齢女性における安全性が確立されている。近年、メトホルミンは種々の癌細胞の増殖に対し抑制的に働く事が明らかとなり、癌治療への応用でも注目を集めている。また、メトホルミンが血管新生抑制効果を示す事も報告された。

我々は、先行研究においてメトホルミンが子宮筋腫細胞の細胞増殖を抑制する事を示し、メトホルミンが副作用の少ない新しい子宮筋腫治療薬となりうる可能性を示した。そこで、本研究ではメトホルミンが子宮筋腫において血管新生因子である VEGF(vascular endothelial growth factor)の発現を抑制するか、また、その分子機構を解析する事を目的とした。

2 方法

ヒト子宮筋腫のモデルとして Eker ラット由来の子宮筋腫細胞株(ELT-3 細胞)を用いた。子宮筋腫の血管新生がメトホルミンによって抑制されるのかどうかを調べるために、メトホルミンが ELT-3 細胞の VEGF 発現を抑制するかを検討した。ELT-3 細胞の培養液中にメトホルミンを添加した際の VEGF 蛋白発現量の変化を調べた。また、メトホルミンがどのような経路で VEGF 蛋白発現を抑制するのかを解明するため、HIF-1 α (hypoxia inducible factor-1 α ; 低酸素誘導因子 1- α)、PHD2(prolylhydroxydase2; プロリルヒドロキシダーゼ)、mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1; 哺乳類ラパマイシン標的蛋白複合体 1)関連因子の発現やリン酸化状態を調べた。筋腫組織は著しい低酸素状態にあるため、塩化コバルトを用いた擬似的低酸素条件下において検討を行った。

3 結果

正酸素条件で ELT-3 細胞の培養液中にメトホルミンを添加した際にメトホルミンは培養上清中および細胞中に存在する VEGF の蛋白発現量を濃度依存的に抑制した。擬似的低酸素条件で ELT-3 細胞の培養液中にメトホルミンを添加した実験では、VEGF と HIF-1 α の蛋白発現量は増加したが、

メトホルミン添加により両者は有意に抑制された。一方、メトホルミンは HIF-1 α の mRNA 発現には影響を与えなかったことから、その作用は翻訳後の段階に起因するものと考えられた。これらのメカニズムの解明として、PHD2 の発現をみた実験においてメトホルミンは PHD2 蛋白発現量には変化を与えなかった。また、mTORC1 関連因子の検討では、メトホルミンが AMPK を活性化し、raptor をリン酸化していた。メトホルミンにより mTORC1 下流の因子である P70S6K と S6 蛋白のリン酸化が抑制されていたことからメトホルミンが ELT-3 細胞において mTORC1 活性を抑制したことが示された。

4 結論

現在までもメトホルミンが血管新生抑制効果を有する事が報告されていたが、本研究によりメトホルミンがラット子宮筋腫細胞株 ELT-3 細胞において VEGF 蛋白発現を抑制し、血管新生効果を有する事が明らかとなった。その機序として、メトホルミンが ELT-3 細胞において mTORC1/HIF-1 α 経路を抑制することに起因する可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 ラット子宮筋腫細胞に対する抗糖尿病薬メトホルミンの
..... 血管新生抑制効果について

所属専攻・分野名 医科学専攻 婦人科学 分野

氏名 只川 真理

子宮筋腫は婦人科領域では最も多い腫瘍であり、その大きさや発生部位により多くの女性の日常生活に支障をきたす疾患である。また、良性腫瘍であるにも関わらず、子宮全摘術の主たる原因ともなっており、医療経済的にも薬物治療の必要性は重大である。既存の薬物治療では子宮筋腫の治療に効果はあるものの、副作用は大きく、長期使用できないといった問題がある。

本学位論文は、新たな治療方法として糖尿病治療薬として汎用されている、メトホルミンの子宮筋腫に対する効果とその作用機序について検討した。本研究の結果では、メトホルミンが子宮筋腫細胞中およびその培養上清中に存在する VEGF のタンパク量を濃度依存的に抑制した。また、VEGF の上流に位置する HIF-1 α タンパクの発現もメトホルミン添加により抑制された。しかし、メトホルミンは HIF-1 α の mRNA 発現には影響を与えなかったことから、その作用は翻訳後に働いていると考えられた。これらのメカニズムとして、メトホルミンが AMPK を活性化し、mTORC1 活性を抑制することで、HIF-1 α タンパクの合成抑制が関与している可能性が示唆された。

本研究で明らかとなったメトホルミンの子宮筋腫細胞に対する細胞増殖抑制効果や血管新生抑制効果は新規性、独創性もあり、今後の子宮筋腫治療に大きく寄与すると思われ、本研究は学位論文にふさわしいと考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。